KIT HEMOGLOBINE FOETALE CL61036

IVD CE

APPLICATION

Le kit de coloration Shepard (modifié Kleihauer) est utilisé pour le dépistage de l'hémorragie foeto-maternelle / passage transplacentaire de globules rouges fœtaux dans le sang maternel.

PRESENTATION DU KIT

Réactifs

- Solution 1 500 ml
  (Solution alcoolique d'hématoxyline)
- Solution 2 250 ml
  (Chlorure ferrique acidifié)

Il convient d'utiliser également

- Solution d'Ethanol à 80% **CL61059**
- Contre colorant d'Eosine 1 % **CL61037**
  OU
- Contre-colorant Erythrosine (0.1%) **CL610610**

PROTOCOLE

Préparation

Réactif opératoire à préparer en mélangeant 2 volumes de solution 1 avec un volume de solution 2 et 1 volume d'éthanol à 80 %.

Technique

1. Diluer le sang sous anticoagulant dans du sérum physiologique dans les proportions 1 : 2 à 1 : 3.
2. Fixer dans l'éthanol à 80 % pendant 5 minutes à température ambiante.
3. Laisser sécher.
4. Colorer pendant 20 secondes dans le réactif opératoire.
5. Rincer à l'eau distillée.
6. Contre-colorer avec le contre colorant Eosine à 1 % ou l'Erythrosine à 0.1 % pendant 3 minutes.
7. Rincer et sécher, utiliser une lame avec de l'huile à immersion.
8. Pour l'examen au microscope, utiliser un objectif x10 et un oculaire x10, pour le dosage de l'hémoglobine fœtale utiliser un objectif x40 et un oculaire x10.

Résultats

Les cellules contenant l'hémoglobine adulte sont complètement éluées laissant des stromas vides. Les cellules contenant l'Hb-F sont colorées en rouge. Les globules blancs sont colorés en gris pourpre

Notes

Il est préférable de recueillir du sang sous anticoagulant EDTA. Si nécessaire, des échantillons datant de 48 heures peuvent être utilisés.

1. Le réactif opératoire est stable pendant six semaines maximum à température ambiante et peut être filtré en cas de précipitation
2. Hb-F résiste à l'élution acide. La modification de Shepard permet d'éviter les inconvénients des solutions tampon de Kleihauer
3. Il est indispensable que le mélange initial (1+2) soit préparé correctement.
4. Tenir à l'écart des flammes. NE PAS FUMER !
5. Des contrôles positifs et négatifs doivent être effectués avec chaque lot d'investigation.

Les contrôles négatifs sont préparés suivant la technique ci-dessus indiquée à partir d'échantillons de sang adulte normal.
Les contrôles positifs sont préparés en mélangeant 1 volume de sang de cordon ombilical avec 10 à 20 volumes de sang adulte et dilué avec du sérum physiologique comme indiqué au point 1 de la méthode.

REFERENCES

1. **Technique**

a. **Human haemoglobin variants and their identification.** Wallet & Robinson *Laboratory Aids Series.*

b. **Nierhaus K & Betke K** (1968) "*Eine vereinfatche modifikation der sauren Elution die cytologische Darstellung vom fetalem Haemoglobin"* Klin.Wschr.**46,** 47.

c. **Kleihauer E, Braun H & Betke K** (1957) *"Demonstration von fetalem in dem Erythrocten eines Blatausstrichs",* Klin.Wschr. **35**, 637.

2. **Interprétation**

a. **Dacie J V & Lewis S M** (1991) "*Practical Haematology" [**7th ed.]*** 472 –475.

b. **Chanarin I et al** (1989) *"Laboratory Haematology – An account of Laboratory Techniques" [**1st. ed.]*** 162 – 163.

c. **Mollison P L, Engelfriet C P & Contreras M.** (1993) *"Blood Transfusion in Clinical Medicine" **[9th. Ed]*** 548 – 9, 798 – 800.

d. **Mollison P L** (1972) *"Quantitation of Transplacental Haemorrhage".* Brit. Med. J. **iii** 31 and 115.

e. **Mollison P L** (1984) *"Some aspects of Rh Haemolytic isease and its prevention"* in Hemolytic Disease of the Newborn, ed. Garraty, Amer. Assoc. of Blood Banks VA

Bibliographie :

The estimation of fetomaternal haemorrhage. Transfusion Medicine, 1999,87-92. Prepared by a working party of the BCSH Blood Transfusion and General Haematology Task Forces.

Fabricant :
CLIN-TECH Ltd.,
Unit G, Perram Works,
Merrow Lane
GUILDFORD, GU4 7BN

Distributeur
LABO-MODERNE
37, rue Dombasle

75015 PARIS

A partir du 1er Juin 2006 et dans le cadre de l'amélioration de la technique, la concentration en Eosine du contre-colorant de Shepard (CL61037) est dorénavant de 1 % au lieu de 0.5 %.

Remarque :

Les solutions 1 & 2 du kit CL61036 doivent être exclusivement utilisées en combiné l'une avec l'autre. Elles ne peuvent en aucun cas être utilisées en combiné avec d'autres réactifs.
La société LABO-MODERNE décline toute responsabilité sur les résultats obtenus si l'utilisation n'est pas strictement conforme à la technique décrite ci-dessus et à la combinaison des deux réactifs originaux.

Mise à jour : C46-53 08/2013